

# ANTISTRESS COMPOSITION

**Publication number:** JP9124470 (A)

**Publication date:** 1997-05-13

**Inventor(s):** ASAMI SUMIO; YOU SHIHAKU; OTSUSE HAYAO;  
YAMASHITA EIJI \*

**Applicant(s):** SUNTORY LTD; ITANO REITOU KK \*

**Classification:**

- **International:** A23L1/30; A23L2/52; A61K31/12; A61K31/122; A61K31/215;  
A61P1/04; A61P1/15; A61P3/00; A61P37/04; A61P43/00;  
A61P9/12; A23L1/30; A23L2/52; A61K31/12; A61K31/122;  
A61K31/21; A61P1/00; A61P3/00; A61P37/00; A61P43/00;  
A61P9/00; (IPC1-7): A23L1/30; A23L2/52; A61K31/12;  
A61K31/12; A61K31/215

- **European:** A23L1/30; A61K31/122

**Application number:** JP19950279225 19951026

**Priority number(s):** JP19950279225 19951026

**Also published as:**

EP0770385 (A1)  
US6265450 (B1)  
SG43432 (A1)  
NZ299641 (A)  
AU7040496 (A)

[more >>](#)

**Abstract of JP 9124470 (A)**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain an antistress composition, comprising astaxanthin and/or its ester as an active ingredient and useful for a food and drink, etc., capable of preventing or improving immunological and hepatic dysfunctions, fatigue symptoms, etc., caused by stress. **SOLUTION:** This antistress composition comprises astaxanthin and/or its ester as an active ingredient. A chemically synthesised substance, a red yeast containing the astaxanthin and/or its ester, a shell of crustaceans such as those of the genus *Tigriopus* (red water flea) or a krill, an extract from green algae, etc., can be used as the astaxanthin. For example, the extract is obtained by a method for extraction from the shell of the crustaceans with an alkyl carboxylate, production by culturing the green algae in a culture medium containing an Na salt, a K salt and an Rb salt, etc. The composition is blended in a food and drink without substantially containing the astaxanthin and/or its ester for use.

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

特開平9-124470

(43) 公開日 平成9年(1997)5月13日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/12	AGZ		A 6 1 K 31/12	AGZ
	ABU			ABU
	ACL			ACL
	ACS			ACS
	ADD			ADD

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 11 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平7-279225	(71) 出願人	000001904 サントリー株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号
(22) 出願日	平成7年(1995)10月26日	(71) 出願人	591265954 イタノ冷凍株式会社 徳島県鳴門市瀬戸町明神字式軒家33番地の2
		(72) 発明者	浅見 純生 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社研究センター内
		(74) 代理人	弁理士 石田 敏 (外3名)

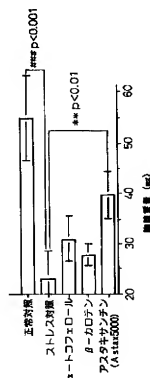
最終頁に続く

## (54) 【発明の名称】 抗ストレス組成物

## (57) 【要約】

【課題】 新規な抗ストレス組成物の提供。

【解決手段】 アスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする抗ストレス組成物。この組成物は医薬、機能性食品、飲食品等の形態であることができる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 アスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする、抗ストレス組成物。

【請求項2】 アスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする、ストレスに起因する免疫機能の低下を予防又は改善するための組成物。

【請求項3】 アスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする、ストレスによる免疫機能の低下に起因する医学的症状を予防又は改善するための組成物。

【請求項4】 前記ストレスによる免疫機能の低下に起因する医学的症状が、癌転移又は癌プロモーションであることを特徴とする請求項3記載の組成物。

【請求項5】 アスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする、ストレスに起因する肝機能低下を予防又は改善するための組成物。

【請求項6】 アスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする、ストレスに起因する疲労症状を予防又は改善するための組成物。

【請求項7】 前記組成物が医薬品である、請求項1乃至6に記載の組成物。

【請求項8】 前記組成物が機能性食品である、請求項1乃至6に記載の組成物。

【請求項9】 アスタキサンチン及び／又はそのエステルを実質上含有しない飲食物に、請求項1乃至5に記載の組成物を添加した飲食物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、アスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とする抗ストレス組成物、並びにこれを添加してなる飲食物に関するものである。より詳細には、アスタキサンチン及び／又はそのエステルを有効成分とするストレスに起因する免疫機能低下、肝機能低下、疲労症状、並びに癌転移等のストレスによる免疫機能の低下に起因する医学的症状を予防又は改善するための組成物、並びにアスタキサンチン及び／又はそのエステルを実質上含有しない飲食物に、該組成物を添加してなる飲食物に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】現代はストレスの時代とも言われ、ストレスに起因する病氣、すなわち心身症をはじめ、神経症、うつ病などのストレス病が増加している。ストレス病をはじめとする健康障害は、ストレスによって生体の恒常性の保持が崩された状態と考えられ、このような健康障害の改善、治療には、各症状や疾患ごとに対症的に治療が行われているのが実情である。

【0003】またストレスにさらされたときの心身の反応を一時的に緩和するために抗不安薬のような薬物が、また睡眠薬のような薬物がストレスに対処するための有効な手段と考えられている。しかしながらストレスを根本的に抑制または軽減するものは知られていない。さら

にストレスによって生体の恒常性の保持が崩れられないよう、ストレスをうまくコントロールするための方法として、さまざまな心と身体のリラクゼーション法が提案されている。しかしながら個人差があり長期的な取り組みが必要である。

【0004】またストレスあるいは疲労を予防・軽減する目的で多種多様な薬剤や食品が開発されている。その代表的なものとしてスポーツドリンクと強壮強精剤が挙げられる。スポーツドリンクは、水分の吸収速度が早く、発汗で失われたビタミン、アミノ酸およびミネラルを速やかに補給することを主眼とし、ストレス及び疲労を直接予防・軽減するものではない。一方、強壮強精剤には、ビタミンやアミノ酸の他に、高麗人參、鹿茸、マムシといった生薬エキスが配合されており、中脈興奮、血流増加、強心および内分泌賦活等の生理効果が期待できる。しかしながら、これらの生薬の生理効果は古来よりの伝承によるものが多く、ストレスを科学的に予防・軽減するものは知られていない。

【0005】また近頃では、ストレス、苦悩、そして多くの精神的疾患はいずれも顕著な情動障害であり、生体の免疫機能の低下と密接に結びついているという研究成果が多数報告されている。精神的苦悩が病気の素因となるという概念そのものは古く、1世紀以上も前からあったが、最近になり初めて科学の分野でも注目を集め、特にストレスと癌との関係が免疫学的に研究されるようになってきた。しかしながらストレスに起因する癌の発症や転移を抑制する具体的な化合物は知られていない。

【0006】一方、カロテノイド（カロチノイド）は、天然有機化合物の0.1%を占めるほど動物、植物、微生物界に広く分布し、その数約600種におよぶ黄～橙～赤色を呈する脂溶性生体色素である。アスタキサンチンもその一種であり、オキアミ、エビ、カニなどの甲殻類、サケ・マスの筋肉・卵（イクラなど）やタイ・コイ・金魚などの体表など、動物界で特にその存在が認められている。

【0007】現在、このアスタキサンチンは、タイ、サケ、マス、ハマチなどの養殖魚の色揚げ剤として使用されているが、最近の研究によりプロビタミンAとなることが、顕著な抗酸化作用を有することが明らかとなり、天然着色料や、酸化防止剤、健康食品、化粧品、医薬品への利用が期待されている〔山下栄次：食品と開発 vol.27 No.3（通巻409号）p38～40（1992）〕。また特開昭63-83017号公報には日焼け防止化粧料への配合が、特開平2-49091号公報にはアスタキサンチンを有効成分とする酸化防止剤や生体の酸化的組織障害を防御するための医薬品、抗炎症剤が開示されている。

【0008】またアスタキサンチンの癌細胞増殖抑制活性〔海洋生物のカロテノイド（幹渉編）、P105-113、恒星社厚生閣（1993.4）〕や、抗体産生活

性 [H. Jyonouchi et al., Nutrition and Cancer, Vol. 19, No. 3, P269-280 (1993)] が知られている。しかしながら、アスタキサンチンが抗ストレス作用を有し、免疫機能低下や肝機能低下、疲労症状の予防又は改善に有効であることは知られていない。

#### 【0009】

【発明が解決しようとする課題】従って本発明は、安全性が高く、かつストレスに伴う諸症状、特にストレスに起因する免疫機能低下、肝機能低下、疲労症状、並びに癌転移や癌プロモーションのようなストレスによる免疫機能の低下に起因する医学的症状等を予防又は改善することを目的とする組成物及びこれを添加してなる飲食品を提供しようとするものである。

#### 【0010】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決するたて鋭意研究を行った結果、アスタキサンチン及び/又はそのエステルが、ストレスに伴う諸症状、特にストレスに起因する免疫機能低下、肝機能低下又は疲労症状、さらには癌転移等のストレスによる免疫機能の低下に起因する医学的症状等に対し予防又は改善効果をするものを見出し、本発明を完成させるに至った。

【0011】従って本発明は、アスタキサンチン及び/又はそのエステルを有効成分とする、抗ストレス組成物を提供しようとするものである。本発明はまた、アスタキサンチン及び/又はそのエステルを有効成分とする、ストレスに起因する免疫機能低下、肝機能低下、疲労症状あるいは癌転移や感染症等のストレスによる免疫機能の低下に起因する医学的症状を予防又は改善するための医薬品又は機能性食品に関する。

【0012】さらに本発明は、アスタキサンチン及び/又はそのエステルを実質上含有しない飲食物に、アスタキサンチン及び/又はそのエステルを有効成分とする抗ストレス組成物又は、ストレスに起因する免疫機能低下等の諸症状を予防又は改善するための組成物を添加してなる飲食品を提供しようとするものである。

#### 【0013】

【発明の実施の形態】ストレスとは、生体内のひずみの状態であり、体外から加えられた有害因子（ストレス因子）と、それによって生じた防御反応の両方が含まれる。ストレス学説 (stress theory) はカナダのセリエ (Selye) によって提唱されたものであるが、ストレス因子としては、物理的（寒冷、放射線、騒音など）、化学的（薬物、ビタミン不足、酸素欠乏など）、生物的（細菌感染など）などの以外に、精神的（受験、手術、試合など）などの、いわゆる情動ストレスも含まれている。

【0014】生体にストレス因子が加わると、自律神経系、内分泌系を介した生体反応が起きることが知られており、特に後者の内分泌系においては下垂体から副腎皮

質刺激ホルモン (ACTH) が分泌され、その作用によって副腎皮質ホルモンが分泌され、これが全身に働いて一連の反応（全身適応症候群）が起こる。

【0015】その第1期は警告反応期であり、ストレスにさらされた際の受身の障害あるいはショックの徴候と、これに対する積極的な防御の症候がある。第2期は抵抗期であり、副腎皮質の重量を増し、ストレス作用に対する抵抗力は最も強く安定した状態になる。しかし他のストレス作用に対する抵抗力はかえって減少している。第3期は疲弊期であり、ストレス作用が強く長く続く、ついには生体の能力が疲れてきて適応力を失ってしまう（南山堂 医学大辞典 1990.2.1 発行 1041ページ）。

【0016】このように、ストレス反応は、生体にとって防御反応という有用な役割を担っているが、反応時にコルチゾールやアドレナリンが過剰に分泌されるため、特に過度のストレスが負荷された場合には多くの生体組織に対し有害に作用し、生体の恒常性が維持できなくなってストレスに起因する種々の疾患が引き起こされると考えられている。すなわちコルチゾールの過剰により、筋肉組織などにおける蛋白質、脂質の大量消費が引き起こされるため疲労が生じたり、また胃や十二指腸の粘膜が破壊されて胃・十二指腸潰瘍が引き起こされる。またアドレナリンの過剰は、高血圧や循環器系の疾患を引き起こし易くなる。

【0017】さらにストレスと免疫と発癌の関連性が知られている（井村裕夫：神経内分泌免疫学、朝倉書房、pp.299-305, 1993）。すなわちストレスは、ほとんどすべての神経内分泌機能に影響を及ぼすが、交感神経、副腎軸及び視床下部・下垂体軸の双方がストレスによる影響を受け、複雑な過程を経て免疫系の機能低下をもたらすものである。このストレス作用は神経系、内分泌系、免疫系の相互作用が修飾される結果であり、双方向性である。

【0018】従ってストレスが腫瘍に対する免疫防御機構で重要な役割を演じているNK細胞や細胞傷害性T細胞の機能を低下させ、結果として発癌や癌の進行に密接に関わっていると考えられている。そして生体応答修飾物質が、免疫系を修飾し、神経内分泌免疫系の相互作用を変化させ、ストレス負荷に対する応答性を変えることが明らかとなり、癌の転移を防御する可能性が示唆されている。さらにストレスは免疫機能を抑制するので、感染症が起こり易くなる。

【0019】本発明の有効成分であるアスタキサンチン及び/又はそのエステルは、エビの卵 [Kuhn et al., Angew. Chem., 51, 465 (1938)、又は Ber., 71, 1879 (1938)]、動物の臓器 [Kuhn et al., Ber., 72, 1688 (1939)]、植物 [Fischer et al., Z. Physiol. Chem., 267, 281 (1941)]、福寿草や金風花の花弁 [Seybold et al., Nature., 184, 1714 (1959)]、鳥の赤い羽根 [Z.

Physiol. Chem., 288, 20 (1951)] 等より発見されているもので、その構造は決定され [Graund., Comt. Rend., 242, 1767 (1956)、又は Andrews et al., Acta. Chem. Scand., B28, 730 (1974)]、合成法も確立されており [Cooper et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1975, 2195, Kienzle et al., Helv. Chim. Acta, 61, 2609 (1978)、Widmer et al., Helv. Chim. Acta, 64, 2405 (1981)、Mayer et al., Helv. Chim. Acta, 64, 2419 (1981)]、化学合成品としても、入手は容易である。

【0020】本発明における該有効成分は、化学的に合成されたアスタキサンチンでも、またアスタキサンチン及び/又はそのエステルを含有する赤色酵母、ティグリオバス(赤ミジンコ)、オキアミ等の甲殻類の殻、緑藻類、微細藻類よりの抽出物(溶媒抽出エキス)の状態であっても、また必要により適宜精製したものであってもよい)であっても、またアスタキサンチン及び/又はそのエステルを含有する甲殻類やヘマトコッカス属の緑藻類を粉砕処理した粉体であっても使用することができる。

【0021】例えば、特開昭58-88353号公報には甲殻類の殻からカルボン酸アルキルエステルを用いて抽出する方法が、特開平1-187082号公報にはクラミドモナス、ヘマトコッカス、アンキストロズムス、クロレラ、クロロコククム、ケラスルム、クルシゲニア、デイクテイオコッカス、セネデムス、スコテイニア、プロトシフオン等のアスタキサンチンを生成する緑藻類を、Na塩、K塩及びRb塩を含む培地中で培養することによって生産する方法が、また特表平2-504101号公報にはファフィア属等のアスタキサンチン生産性酵母細胞を変異系で処理した後、特定の条件下でデیفコヤマ培地で培養することによって生産する方法が記載されている。

【0022】特表平2-501189号公報にはミクロ藻類の成長期の末期における培養基中のC/Nの濃度比を調整してヘマトコッカス・フルビアリスによるアスタキサンチンの生成を増加させる方法が、また特開平3-206880号公報には高収量のアスタキサンチン生産能を有する酵母の突然変異体が、また特開平4-228064号公報にはファフィア・ロドジマの突然変異株によるアスタキサンチンを高レベルで製造する方法が記載されている。

【0023】また、特開平5-68585号公報にはヘマトコッカス・フルビアリスを暗所で好氣的に培養後、特定の方法で該藻類のシスト化を誘発することにより、アスタキサンチンを大量に得る方法が、また特表平5-509227号公報にはアドニス(adonis)属植物からアスタキサンチンを抽出する方法が開示されているが、本発明においては、いずれの方法によって得られるアスタキサンチン及び/又はそのエステルを含有する抽出物(溶媒抽出エキスの状態であっても、また必要により適宜精製したものであってもよい)を使用することがで

きる。またこれら以外の方法であっても本発明の有効成分の特性を有効に利用できるものであれば適宜使用することができる。

【0024】さらに特開平1-186860号公報には生の甲殻類を低温乾燥、粉砕処理することによって得られるアスタキサンチン含有粉体が、また特開平3-83577号公報にはヘマトコッカス属の緑藻体を粉砕処理することによって得られる破砕藻体組成物が開示されているが、本発明においては、いずれのアスタキサンチン及び/又はそのエステルを含有する粉体であっても使用することができる。またこれら以外の方法であっても本発明の有効成分の特性を有効に利用できるものであれば適宜使用することができる。

【0025】また特開平4-225933号公報には特定の第三アルコールとトリフルオロ酢酸を反応させ新規な中間体を経て低温でかつ過剰の試薬を使用せずにアスタキサンチンを合成する方法が開示されているが、本発明においてはこれを含め、いずれの方法によって化学合成されたアスタキサンチン及び/又はそのエステルをも使用することができる。

【0026】さらに特開昭60-4558号公報にはオキアミの生体またはそれらの乾燥体を、アセトン、n-ヘキサン、酢酸エチル等の有機溶剤で浸漬し、色素を溶出した溶剤抽出液について、そのpHを中性にした後、リパーゼあるいはアルカリを添加して脂肪酸その他のきょう雑物を分解して液系としこれを超臨界ガス抽出あるいは分子蒸留し、又は希アルカリを用いて洗浄することを特徴とする黄色〜赤橙色アスタキサンチンの製造方法が記載されている。

【0027】また、特開昭61-281159号公報にはオキアミの乾燥体から、アセトン、n-ヘキサン等の有機溶剤で抽出された粗色素液について、色素以外の不飽和脂質を触媒で選択的に水素添加した後、リパーゼを添加して脂質を加水分解し、遊離した脂肪酸を尿素添加及び/又は分子蒸留で除去し、必要であればさらにカラムクロマトグラフィーにより濃縮、精製することを特徴とする橙色素アスタキサンチンの製造方法が開示され、さらに、山下栄次：食品と開発 vol. 27 No. 3(通巻409号) p38~40 (1992) には、オキアミの有機溶剤抽出物または超臨界抽出物について高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を行うことによって、アスタキサンチンエステル、モノエステル及び遊離のアスタキサンチンを分離することができることが記載されている。

【0028】特開平5-155736号公報には、HPLCを行うことによってトリグリセリドや極性脂質などが除去でき、色素濃度を飛躍的に上げることができ、また海産物特有の臭いの元となる物質も除去され、そしてカラムに充填する固定相となる吸着剤は例えばシリカゲル、クイ酸、活性アルミナなどがあり、移動相となる低酸性溶剤としては例えばn-ヘキサン、シクロヘ

キサン、石油エーテルなどがあり、極性溶剤としては例えばアセトン、酢酸エチル、メタノールなどがあり、色素の精製には、まずn-ヘキサンでトリグリセリドなどの低極性脂質を溶出させ、次にn-ヘキサン中のアセトンの含有を増す(アセトン含量は約0.1~20%アセトン/n-ヘキサンの範囲)ことにより色素を溶出回収することが記載されている。

【0029】本発明においては、このようないずれの方法で精製されたアスタキサンチン及び/又はそのエステルを含有する抽出物をも使用することができる。またこれら以外の方法であっても本発明の有効成分の特性を有効に利用できるものであれば適宜使用することができる。本発明においては、前述のアスタキサンチン及び/又はそのエステルを含有する粗抽出物や破砕粉体物、あるいは必要により適宜精製されたもの、化学合成されたもの等を、単独で又は適宜組み合わせる用いることができる。

【0030】本発明においてアスタキサンチンのエステルとしては、例えばパルミチン酸、ステアリン酸等の飽和脂肪酸、あるいはオレイン酸、リノール酸、 $\alpha$ -リノレン酸、 $\gamma$ -リノレン酸、ビスホモ- $\gamma$ -リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸等の不飽和脂肪酸のモノエステル又はジエステルが挙げられ、これらは単独で又は適宜組み合わせる用いることができる。アスタキサンチンは、その両端に、 $\beta$ -カロチンの骨格にオキシ基とヒドロキシ基が余分についた構造であるため、 $\beta$ -カロチンとは異なり、フリーの分子の安定性が低いのに対し、両端のヒドロキシ基が不飽和脂肪酸等でエステル化されたもの(例えばオキアミ抽出物)はより安定である。

【0031】アスタキサンチン及び/又はその粗抽出物はエタノールに溶解し、水で希釈した後これを直接使用することができるが、必要に応じて乳液状製剤を調製することができる。乳液状製剤を調製するにあたっては水相部に没食子酸、L-アスコルビン酸(あるいはそのエステルまたは塩)、ガム質(例えばローカストビーンガム、グアーガム、又はゼラチン等)、さらにビタミンP(例えばヘスペリジン、ルチン、ケルセチン、カテキン、チアニジン、エリオジクチン等のフラボノイドあるいはその混合物)などを、また油相部にはアスタキサンチンあるいはアスタキサンチン粗抽出液、またはその混合物を添加し、さらにグリセリン脂肪酸エステル又は油脂、例えば採種油、大豆油、コーン油等の通常の液状油を加えて乳化することにより容易に調製することが可能である。乳化するには高速攪拌器、ホモジナイザー等を用いて混合乳化すればよい。

【0032】本発明のアスタキサンチンは元来天然に存在する物質であり食経験もあることから、低毒性で安全性も高いことが容易に考えられ、抗ストレス組成物としての意義も大きい。実際、4週令のICR雄性マウスに

対し、オキアミ類から溶媒抽出しHPLCにて精製したアスタキサンチン含有エキスであるASTAX1700(イタノ冷凍(株)製、アスタキサンチン1.7重量%含有油脂)2g/kgを、単回投与(経口投与)し、急性毒性試験を行ったところ、症状、外観、体重推移、剖検所見に何ら異常は認められなかった。本発明のアスタキサンチン及び/又はそのエステルは、医薬品、医薬部外品、化粧品、機能性食品、栄養補助剤、飲食品として使用することができる。

【0033】本発明の組成物は、ストレスによる種々の健康障害を予防または改善することができる。従って本発明の組成物は、精神及び肉体又はいずれかをリラックスするために、また精神安定のために利用することができる。また本発明の組成物は、ストレス、例えば物束、騒音、外科手術、火傷等の物理的ストレスや、生体のリズムの乱れや社会的ストレス、さらにはconditioningやpassive avoidanceなどの精神的ストレスによる免疫機能の低下を予防または改善することができる。従って本発明の組成物は、ストレスによる免疫機能の低下に起因する医学的症状、例えば感染症、癌転移、癌リモーション等の予防又は改善に用いることができる。なお本発明における症状の改善とは疾患の治療をも含んでいる。

【0034】また本発明の組成物は、ストレスにより胃や十二指腸の粘膜が破壊されて引き起こされる胃・十二指腸潰瘍や、ストレスによる肝臓等の臓器の機能低下や、高血圧、循環器系の疾患等を予防又は改善することができる。さらに本発明の組成物は、肉体的ストレスおよび精神的ストレス又はいずれかに起因する種々の疲労症状を抑制することができるため、肉体労働、精神作業又はスポーツ等の前、中及び後に用いられる。なお本発明において症状の改善には疾患の治療も含まれる。

【0035】本発明の有効成分を医薬品として用いる場合、投与形態は、経口投与または非経口投与が都合よく行われるものであればどのような剤形のものであってもよく、例えば注射液、輸液、散粒、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、丸剤、腸溶剤、トローチ、内服液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、外用液剤、湿布剤、点鼻剤、点耳剤、点眼剤、吸入剤、軟膏剤、ローション剤、坐剤、経腸栄養剤等を挙げることができ、これらを症状に応じてそれぞれ単独で、又は組み合わせる使用することができる。これら各種製剤は、常法に従って目的に応じて主薬に賦形剤、結合剤、防腐剤、酸化安定剤、崩壊剤、滑沢剤、燥味剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用する既知の補助剤を用いて製剤化することができる。

【0036】またその投与量は、投与の目的や投与対象者の状況(性別、年齢、体重等)により異なるが、通常、成人に対してアスタキサンチンとして、経口投与の場合、1日あたり0.1mg~10g、好ましくは0.1

mg~1g、予防効果としては0.1mg~100mgの範囲で、また非経口投与の場合、1日あたり0.01mg~1g、好ましくは0.01mg~100mg、予防効果としては0.01mg~10mgの範囲で投与することができる。

【0037】アスタキサンチン及び/又はそのエステルを実質上含有しない飲食物に、アスタキサンチン及び/又はそのエステルを有効成分とする本発明の組成物を添加してなる本発明の飲食物において、アスタキサンチン及び/又はそのエステルを実質上含有しない飲食物としては、アスタキサンチン及び/又はそのエステルの製品含量が極微量であるため、1日摂取量あたりのアスタキサンチン及び/又はそのエステルの総含量が0.1mg未満のものは、本発明のアスタキサンチン及び/又はそのエステルを実質上含有しない飲食物に含まれる。

【0038】本発明の飲食物は、所定量のアスタキサンチン及び/又はそのエステル、もしくはこれを主成分とする抽出物、飲食品原料とともに配合し、通常の方法により加工製造することができる。その配合濃度は剤形、食品の形態性状により異なるが、一般には0.001~10%が好ましいが特に限定されるものではない。ただし最終製品の1日摂取量あたり、本発明の有効成分が、抗ストレス作用を、あるいはストレスによる免疫機能低下、肝機能低下、疲労症状又は癌転移や癌プロモーションのようなストレスによる免疫機能低下に起因する医学的症狀の予防又は改善作用を発揮するのに必要な量だけ含まれているように調製する。

【0039】本発明の飲食物において、その形態としては、固形、あるいは液状の食品あるいは嗜好品のいずれであってもよい。例えば、マーガリン、バター、バターソース、チーズ（ナチュラル、プロセス）、生クリーム、ショートニング、ラード、アイスクリーム、ヨーグルト、ヨーヨー用ミルク、乳製品、ソース、スープ、肉製品、魚製品、ポップコーン、フライドポテト、ポテトチップ、ふりかけ、だて巻き、和菓子類（せいはい等）。

【0040】洋菓子類（プリン、ゼリー、グミキャンデー、キャンディー、ドロップ、キャラメル、チョコレート、チューインガム、ペストリー等）、焼き菓子類（カステラ、ケーキ、ドーナツ、ビスケット、クッキー、クラッカー等）、マカロニ、パスタ、サラダ油、インスタントスープ、ドレッシング、卵、マヨネーズ、みそ、炭酸系飲料、非炭酸系飲料（果汁飲料、ネクター飲料等）、清涼飲料、スポーツ飲料、茶、コーヒー、ココアなどの非アルコール飲料、リキュール、薬用酒等のアルコール飲料等を挙げることができる。

【0041】本発明の有効成分を機能性食品、栄養補助食品として用いる場合、形態としてはカプセル剤や顆粒剤、経腸栄養剤等の上記医薬製剤の形態であっても、また例えば蛋白質（蛋白質源としてはアミノ酸バランスのとれた栄養価の高い乳蛋白質、大豆蛋白質、卵アルブミ

ン等の蛋白質が最も広く使用されるが、これらの分解物、卵白のオリゴペプチド、大豆加水分解物等の他、アミノ酸単体の混合物も使用される）、糖類、脂肪、微量元素、ビタミン類、乳化剤、香料等が配合された自然発酵食、半消化態栄養食および成分栄養食、ドリンク剤等の加工形態をあげることができるが、一般食品の形態であれば特に限定されない。

【0042】スポーツドリンクあるいは栄養ドリンクとして提供する場合は、栄養バランスを整え、かつ摂取時の風味を一層よくするため、易消化性の含水炭素、アミノ酸、ビタミン類、ミネラル類等の栄養的添加物や甘味料、香辛料、香料、色素等を配合することもできる。また医師の指示に基づく栄養士の管理下、病院給食の調理の際に任意の食品に本発明の有効成分を加え、その場で調製した食事を患者に与えることもできる。

【0043】アスタキサンチン及び/又はそのエステルは水に不溶のため、直接あるいはさらに乳化剤を用いて油脂に懸濁し、カプセル等へ供したり、またアスタキサンチン及び/又はそのエステルを油脂に溶解し、さらに界面活性剤や高分子物質等を含む水溶液で乳化し、得られた乳剤を、水に分散したり、スプレードライして、液状または粉末状にすることができる。アスタキサンチンは油脂に対する溶解度も非常に低いため、アスタキサンチンの結晶を油に溶かすにはかなりの時間がかかるが、結晶を細かくすると溶解速度を早くすることができる。アスタキサンチンの溶解度も100℃以上に加熱すると非常に大きくなる。

【0044】一方、アスタキサンチンのエステルは油脂に対する溶解度が高く、油脂に容易に溶解させることができる。油脂としては大豆油、トウモロコシ油、ナタネ油、バーム油、オリーブ油、サフラワー油、レモン油、オレンジ油、ピーナツ油、ヒマワリ油などの植物油や、これらに水素添加した硬化油や、ラノリン、鯨ロウ、ミツロウなどの天然ロウや、牛脂、豚脂、バターなどの動物脂や、小麦胚芽油、ビタミンE濃縮油などが用いられる。また乳化剤としては、グリセリン脂肪酸エステル、しよ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、大豆リン脂質、アロピレングリコール脂肪酸エステル、ステアリン酸ジグリセリドなどが用いられる。

【0045】またアスタキサンチン及び/又はそのエステルを、環状デキストリン（ $\alpha$ -シクロデキストリン、 $\beta$ -シクロデキストリン、 $\gamma$ -シクロデキストリン）を用いて包接することにより、水に可溶な粉末状の包接物を得ることができる。なお、アスタキサンチン及び/又はそのエステルは酸化されやすく、空気中では比較的に容易に分解するが、本発明の有効成分にビタミンE、ビタミンC、グルタチオン、フィチン酸、カテキン類、フラボノイド類、 $\beta$ -カロテンなどの抗酸化剤を添加して分解を抑制することが好ましい。

【0046】本発明の飲食物、機能性食品、栄養補助剤

は、ストレス症状に対する予防改善や健康維持を目的として、目安として1日あたりアスタキサンチンとして0.1mg~10g、好ましくは0.1mg~1g、予防効果としては0.1mg~100mgの範囲で摂取されることが望ましい。次に実施例により、本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

#### 【0047】

##### 【実施例】

#### 実施例1. 拘束ストレスによる胸腺重量低下に対する影響

6週令のC57BL/6雄性マウスを日本クレア(株)より購入し、SPF(specific pathogen free)の環境下で一週間予備飼育後、7週令で実験に供した。マウスを拘束群(16匹)及び非拘束群(5匹)の2群に分け、非拘束群は非拘束対照群とした。拘束群はさらに1群4匹で4群に分け、それぞれ拘束対照群、ビタミンE投与群、 $\beta$ -カロテン投与群、アスタキサンチン投与群とした。拘束群は金網拘束ゲージにて最低限の体移動と飲水可能な条件下で実験マウスを20時間拘束し、拘束ストレスを負荷した。

【0048】アスタキサンチンとしてはオキアミから抽出精製されたイタノ冷凍(株)の「ASTAX5000」(アスタキサンチンジエステル3, 57%, アスタキサンチンモノエステル1, 53%を含有)を用いた。ASTAX5000を100mg/10mlの濃度になるように中鎖脂肪酸トリグリセリド(MCT)に溶解し(アスタキサンチン含量として5.1mg/10ml)、被験物質溶液とした。 $\beta$ -カロテンはMCTに溶解し、対照群はMCTのみ使用した。被験物質は各100mg/10ml/kg/dayの用量で、拘束前日、拘束開放直後および翌日の3日間の連続経口投与を行った。

【0049】拘束開放から48時間後にマウスを頸椎脱臼により屠殺し、胸腺を摘出し重量を測定した。結果を図1に示す。拘束ストレス負荷により胸腺重量が有意に低下し、免疫機能の低下が示唆された。これに対しアスタキサンチンを投与することによりこの重量低下を有意に抑制し、ストレス抑制効果を示すことが確認された。

#### 【0050】実施例2. 拘束ストレスによる脾臓リンパ球数減少およびNK細胞活性低下に対する影響

実施例1の拘束開放から48時間後に屠殺したマウスから脾臓を摘出し、この脾臓をルーズフィッティングガラスホモジナイザーで細かく刻んで遊離細胞浮遊液を作成した。そしてこれらの細胞を低張処理し、赤血球を除出し、洗浄後、10%牛胎児血清(FCS)を添加したRPMI 1640培地に浮遊させ、脾臓あたりのリンパ球数を算出した。結果を図2に示す。ストレス負荷により脾臓のリンパ球数は有意に減少するが、アスタキサンチンの投与はこのリンパ球数の減少を有意に抑制すること

が確認された。

【0051】次に、上記の脾臓リンパ球のNK細胞活性を以下の方法により算出した。すなわち96ウェルの丸底マイクロプレートの各ウェルに脾臓リンパ細胞を $2 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^5$  cell/well に分注し、 $^{51}\text{Cr}$  sodium chromate にて標識したターゲット細胞であるYAC-1を $1 \times 10^4$  cell/well 加え、37℃で6時間培養後、上清0.1ml中に遊離する放射活性を測定し、細胞障害を評価した。NK細胞活性は次の式により、ターゲット細胞の30%に細胞障害を与える細胞数(LU<sub>50</sub>)として求めた。

$$\% \text{ Cytolysis} = (\text{Experimental cpm} - \text{Spontaneous cpm}) / (\text{Maximum cpm} - \text{Spontaneous cpm}) \times 100$$

結果を図3に示す。脾臓リンパ球あたりのNK細胞活性は、ストレスにより低下するが、アスタキサンチンの投与によりNK細胞の細胞障害活性の低下が抑制され、ストレスに起因する免疫機能低下に対し抑制効果を示すことが確認された。

#### 【0052】実施例3. 拘束ストレスによる肝臓過酸化脂質上昇に対する影響

実施例1の拘束開放から48時間後に屠殺したマウスから肝臓を摘出し、肝臓組織に含まれる過酸化脂質を、内山と三原の方法(uchiya et al.: Anal. Biochem. 86, 271)に従って、2-チオバルビツール酸(TBA)反応・生成物として求めた。すなわち、各実験群マウスから摘出した各肝臓に9倍量の1.15%NaCl溶液を添加し、チロホモジナイズした。このホモジネートの5倍希釈液の0.5mlをキャップつきバイレット試験管に移し、さらに0.3mlの1%リン酸溶液、1.0mlの0.67%TBA溶液を添加し、密封後45分間煮沸した。

【0053】速やかに冷却させた後に、4.0mlのn-ブタノールを加え、振とうし、3000rpmで10分間、遠心分離を行った。得られたブタノール層における吸光度の差(A535-520)を測定した。TBA反応生成物量は1,1,3,3-テトラエトキシプロパンを標準化合物として用い、 $\mu\text{moles/g}$ 肝組織湿重量として算出した。結果を図4に示す。図4に示されるように、拘束ストレスによって肝臓の過酸化脂質は有意に上昇するが、アスタキサンチン投与はこの上昇を有意に抑制したことから、ストレスに起因する肝臓機能低下に対し抑制効果を示すことが確認された。

#### 【0054】実施例4. アスタキサンチン抗ストレス作用の最小有効量の検討

アスタキサンチンはastaxanthin(ロッシュ)を用い、アスタキサンチン濃度が0.04mg/10ml/kg、0.2mg/10ml/kg、1.0mg/10ml/kg、5.0mg/10ml/kgとなるようにMCTに溶解し被験物質溶液とした。実施例1及び2と同様の操作を行い、胸腺重量と脾臓由来NK細胞活性を



測定した。結果を図5及び図6に示す。アスタキサンチン投与群は、ストレス負荷による胸腺重量の有意な減少に対し、用量依存的に抑制効果を示し、1.0mg/kg以上の用量域で有意であった。またNK細胞活性については、ストレスによる活性低下に対し0.04mg/kg以上の用量域で抑制傾向が認められた。このことから、アスタキサンチンの最小有効濃度は1.0mg/kgあたりと考えられる。

【0055】実施例5、拘束ストレスによる癌転移促進に対する影響

7週令のDBA/2雄性マウスを日本クレア(株)より購入し、SPF (specific pathogen free) の環境下一週間予備飼育後、8週令で実験に供した。実験マウスを、拘束ストレス非負荷対照群(8匹)、拘束ストレス負荷対照群(8匹)、拘束ストレス負荷アスタキサンチン投与群(9匹)の3群にわけて実験を行った。アスタキサンチンは1mg/kg/day (MCT溶液) ずつ、拘束前日、拘束開放直後と翌日の3回強制経口投与した。アスタキサンチンとして合成品である(株)ロッシュのastaxanthinを使用し、対照群にはMCTのみを同様に3回強制経口投与した。拘束ストレス負荷は、実施例1と同様の条件で行った。

【0056】P815 (DBA/2 mouse cutaneous melanoma) 製剤例2、(ドリンク剤)

呈味: DL-酒石酸ナトリウム  
コハク酸  
甘味: 液糖  
酸味: クエン酸  
ビタミン: ビタミンC  
アスタキサンチンエチルエステル  
ビタミンE  
シクロデキストリン  
香料  
塩化カリウム  
硫酸マグネシウム

上記の成分を配合し、水を加えて100リットルとした。このドリンク剤は、1回あたり約100mlを飲用す

製剤例3、(滋養強壮強精剤)

呈味: DL-酒石酸ナトリウム  
コハク酸  
甘味: 液糖  
酸味: クエン酸  
ビタミン: ビタミンC  
ビタミンB1  
ビタミンB2  
ビタミンB6  
ビタミンB12  
葉酸  
ニコチン酸  
ビタミンE

astocytoma) 肥満細胞腫は、当研究室でDBA/2マウスの腹腔内で継代培養しているものを用い、1×10<sup>4</sup>細胞/匹づつを尾静脈内より移植した。なお拘束ストレス群はストレス開放24時間後に肥満細胞腫を移植した。移植後16日に肝臓を摘出し、ブーアン固定後、肝表面の転移結節数を測定した。結果を図7に示す。図7に示されるように、ストレス負荷によって免疫活性(NK細胞活性など)の低下が起きると、これにより移植した肝臓の転移が有意に促進される。アスタキサンチン投与により、ストレスに起因する免疫機能低下による癌転移促進が顕著に抑制されることが確認された。

【0057】製剤例1、(カプセル剤)

ゼラチン	70.0%
グリセリン	22.9%
パラオキシ安息香酸メチル	0.15%
パラオキシ安息香酸プロピル	0.51%
水	適量
計	100%

上記成分からなるソフトカプセル剤皮の中に、オキアミ抽出油脂(アスタキサンチンジエステル3.57%、アスタキサンチンモノエステル1.53%含有)を常法により充填し、1粒180mgのソフトカプセルを得た。

【0058】

呈味: DL-酒石酸ナトリウム	1g
コハク酸	0.09g
甘味: 液糖	8Kg
酸味: クエン酸	120g
ビタミン: ビタミンC	100g
アスタキサンチンエチルエステル	30g
ビタミンE	300g
シクロデキストリン	50g
香料	150ml
塩化カリウム	10g
硫酸マグネシウム	5g

る。

【0059】

呈味: DL-酒石酸ナトリウム	1g
コハク酸	0.09g
甘味: 液糖	8Kg
酸味: クエン酸	120g
ビタミン: ビタミンC	100g
ビタミンB1	20g
ビタミンB2	20g
ビタミンB6	20g
ビタミンB12	20g
葉酸	10g
ニコチン酸	20g
ビタミンE	300g

シクロデキストリン	50 g
アスタキサンチンエチルエステル	30 g
香料	150 ml
塩化カリウム	10 g
硫酸マグネシウム	5 g

上記の成分を配合し、水を加えて100リットルとした。この滋養強壮強精剤は、1回あたり約100mlを飲用する。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、拘束ストレスによる胸腺重量の減少に対するアスタキサンチンの重量増加効果を示すグラフである。

【図2】図2は、ストレスによるリンパ球の減少に対するアスタキサンチンの減少抑制効果を示すグラフである。

【図3】図3は、ストレスによるNK細胞活性の低下に対するアスタキサンチンの低下抑制効果を示すグラフである。

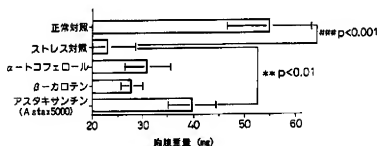
【図4】図4は、ストレスによる肝臓脂質過酸化に対するアスタキサンチンの過酸化度低下効果を示すグラフである。

【図5】図5は、拘束ストレスによる胸腺重量の減少に対するアスタキサンチンの重量増加効果を示すグラフである。

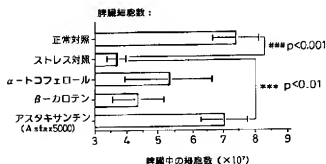
【図6】図6は、ストレスによる脾臓由来NK細胞活性の低下に対するアスタキサンチンの低下抑制効果を示すグラフである。

【図7】図7は、ストレスによる免疫活性の低下に基づく転移結節の増加に対するアスタキサンチンの抑制効果を示すグラフである。

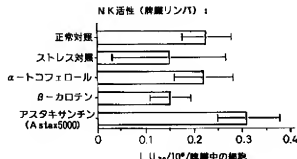
【図1】



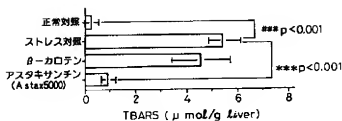
【図2】



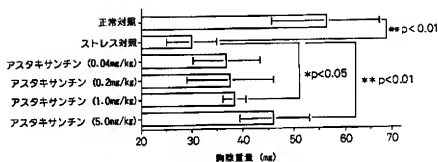
【図3】



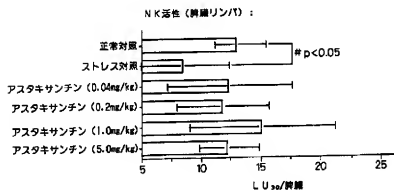
【図4】



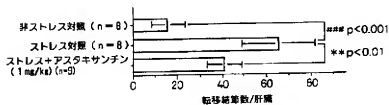
【図5】



【図6】



【図7】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 L	1/30		A 2 3 L	1/30 A
	2/52		A 6 1 K	31/215 A B D
A 6 1 K	31/215	A B D	A 2 3 L	2/00 F

(72)発明者 楊 志博  
 大阪府三島郡島本町若山台 1 丁目 1 番 1 号  
 サントリー株式会社研究センター内

(72)発明者 乙瀬 速雄  
 徳島県鳴門市瀬戸町明神字武軒家33番地の  
 2 イタノ冷凍株式会社本社工場内  
 (72)発明者 山下 栄次  
 徳島県名西郡石井町高原字平島678-1  
 イタノ冷凍株式会社徳島工場内